

SELECCIONADOS TRES HÍBRIDOS DE EXCELENTE CALIDAD PARA INICIAR EL PROCESO DE PROPAGACIÓN COMERCIAL

Nuevas variedades triploides de mandarinos de maduración tardía

L. Navarro, J. Juárez, P. Aleza, J. Cuenca, J. M. Julve, J. A. Pina.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Moncada. Valencia.

En el IVIA se está realizando un amplio programa de mejora genética de mandarinos que tiene como objetivo la obtención de nuevas variedades de mandarino tardías y que no produzcan semillas, con la finalidad de resolver el problema de la inadecuada estructura de variedades de esta especie. El programa se basa en la obtención de híbridos triploides, para lo que se usan diversas técnicas biotecnológicas de cultivo de tejidos y citometría de flujo. Se han obtenido más de 9.000 híbridos triploides que están en distintas fases de evaluación.

La estructura de las variedades de mandarino cultivadas en España presenta importantes problemas. En la primera parte de la campaña desde mediados de septiembre a finales de enero, existen diversas variedades de clementina de elevada calidad que permiten un abastecimiento continuo de los mercados internacionales en este periodo, incluso llegando a la saturación de los mismos por un exceso de producción. Las clementinas tienen polen y los óvulos viables, pero son sexualmente autoincompatibles, por lo que no se polinizan entre ellas y producen frutos sin semillas.

Los mercados internacionales demandaban cantidades importantes de mandarinas tardías de calidad más allá del periodo de producción de las clementinas. Para cubrir esta demanda se introdujeron variedades de mandarinos híbridos como Fortuna, Nova, Ellendale, Ortanique y más recientemente Moncada y Nadorcott. Estas variedades tienen polen y óvulos viables, pero como en el caso de las clementinas son autoincompatibles y producen frutos sin semillas.

Estas variedades tardías, además de problemas de calidad, tienen el gran inconveniente de que permiten una polinización cruzada con las clementinas, lo que provoca la aparición de semillas en ambos grupos de variedades. Esto produce un importante problema comercial, ya que los consumidores no aceptan las mandarinas con se-

millas. Las medidas para disminuir la formación de semillas implican la separación de las colmenas de abejas de las parcelas de producción de híbridos, lo que provoca conflictos con el sector de la apicultura y además no resuelve el problema. Por otra parte, recientemente han surgido problemas importantes debidos a los daños provocados por el hongo *Alternaria alternata* en Fortune, que está provocando el arranque o sobreinjerto de esta variedad.

Además, en los últimos años se ha producido una plantación masiva de clementinos, especialmente Clemenules, que ha provocado una gran producción que está muy por encima de la demanda de los mercados. Esto ha provocado el hundimiento de los precios de las clementinas y en consecuencia pérdidas económicas muy importantes para los productores.

La solución a esta problemática requiere disponer de variedades tardías de calidad que no produzcan semillas ni provoquen la formación de semillas en las clementinas por polinización cruzada. Estas variedades permitirían alargar la campaña de producción de las mandarinas y reconvertir una parte de la superficie de clementinas para evitar los excesos de producción. Se estima que sólo en la Comunidad Valenciana sería necesario reconvertir 25.000 hectáreas de clementinas para adaptar la producción a la demanda de los mercados y conseguir precios rentables para los agricultores.

El IVIA está llevando a cabo desde 1995 un ambicioso programa de mejora para la obtención de nuevas variedades de mandarino tardías y que no produzcan semillas, con la finalidad de resolver el problema de la inadecuada estructura de variedades de esta especie. El programa se basa en la obtención de híbridos triploides, para lo que se usan diversas técnicas biotecnológicas.

El sector requiere disponer de variedades tardías de calidad que no produzcan semillas ni provoquen la formación de semillas en las clementinas por polinización cruzada. Estas variedades permitirían alargar la campaña de producción de las mandarinas y reconvertir una parte de la superficie de clementinas para evitar los excesos de producción

Obtención de híbridos triploides

La carencia de semillas es una condición básica que deben tener las variedades de cítricos destinadas al consumo en fresco en mercados de calidad. Para ello las variedades deben ser autoincompatibles y además no presentar problemas de polinización cruzada con otras variedades. Esto es lo que sucede con las variedades de los grupos navel y satsumas, que son autoincompatibles, tienen polen inviable y presentan degeneración de los megasporocitos femeninos. Estos caracteres son extraordinariamente difíciles de incorporar a otras variedades, ya que entre otras razones se desconocen cuales son los mecanismos genéticos que los controlan.

Una alternativa con gran potencial es la obtención de híbridos triploides, con 27 cromosomas en vez de los 18 de las variedades normales diploides. Las plantas triploides sólo producen semillas de forma ocasional. Esto es debido a que en la meiosis los gametos reciben distinto número de cromosomas, lo que causa esterilidad y en consecuencia no producen semillas o éstas abortan en su mayoría. Además, estas plantas no presentan problemas de polinización cruzada con otras variedades.

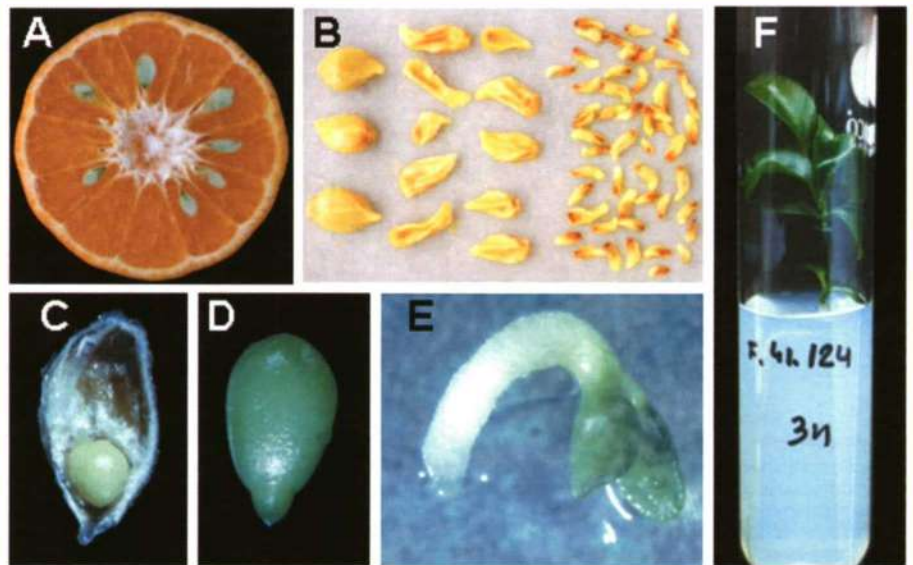
La obtención experimental de variedades triploides de cítricos se conoce desde la década de los años setenta del pasado siglo, mediante cruzamientos entre plantas diploides y tetraploides e incluso en algunos casos en cruzamientos entre dos parentales diploides. Sin embargo, las semillas con embriones triploides generalmente abortan o no alcanzan un desarrollo normal, por lo que es muy difícil su germinación mediante métodos convencionales. Además, los métodos clásicos de análisis de ploidía en cítricos son muy lentos y tediosos y no pueden aplicarse a grandes poblaciones de híbridos. Por estas razones se ha tardado mucho tiempo en incorporar los conocimientos sobre obtención de triploides en programas de mejora amplios.

En el laboratorio de Cultivo de Tejidos hemos puesto a punto un procedimiento para el cultivo in vitro de embriones procedentes de semillas abortadas o poco desarrolladas que ha permitido resolver el primero de los problemas (**figura 1**). Los pequeños embriones (alrededor de 1 mm de longitud) se aíslan en condiciones estériles de las semillas con ayuda de un microscopio y se cultivan in vitro en un medio de germinación. Alrededor del 84% de los embriones germina, produciendo plantas que se recultivan en un medio de elongación hasta que alcanzan el tamaño adecuado para su trasplante a invernadero.

El problema del análisis de ploidía para determinar las plantas resultantes que son realmente triploides se ha resuelto mediante la utilización de un equipo de citometría de flujo (**figura 2**). Esta tecnología permite determinar el número de cromosomas de una planta en unos

Figura 1.

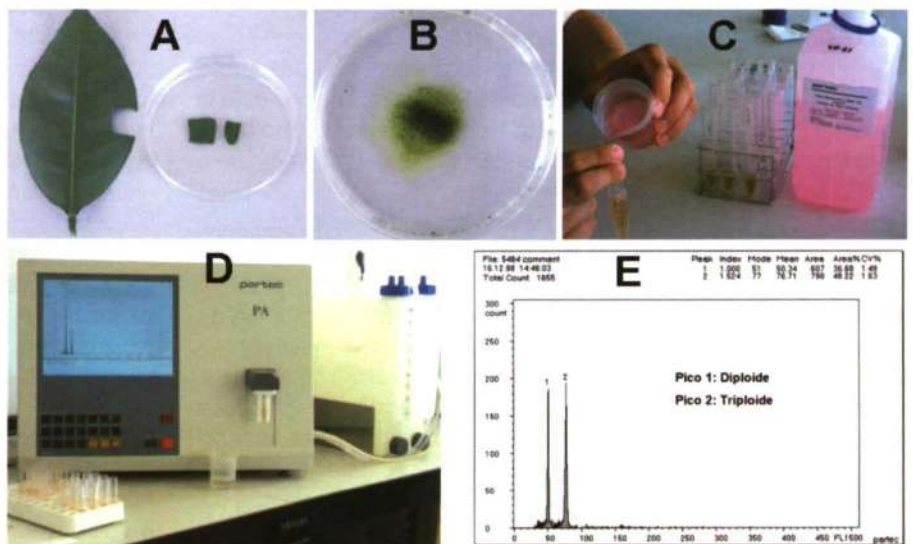
Rescate de embriones in vitro.



A) Fruto procedente de una polinización $2n \times 4n$; **B)** Semillas extraídas del fruto normales (izquierda) y poco desarrolladas o abortadas (centro y derecha); **C)** Semilla con los cotiledones degenerados con un embrión de 1 mm aproximadamente en su interior; **D)** Embrión extraído de la semilla; **E)** Embrión germinando; **F)** Plántula triploide procedente del embrión.

Figura 2.

Análisis de ploidía mediante citometría de flujo.



A) Trozos de hoja en una placa Petri de una planta diploide que se usa como control y de una planta potencialmente triploide; **B)** Placa Petri con las hojas finamente troceadas en un medio de extracción de núcleos; **C)** Tinción de los núcleos en suspensión con el colorante DAPI; **D)** Citómetro de flujo; **E)** Histograma que muestra un pico correspondiente a la planta diploide control y un pico correspondiente al híbrido triploide.

diez minutos, en contraposición con las cerca de dos horas que se requieren para realizar el análisis mediante las técnicas histológicas clásicas.

La disponibilidad de estas biotecnologías nos permitió iniciar un amplio programa de obtención de híbridos de mandarina triploides, con el objetivo general de obtener nuevas variedades tardías, sin se-

Figura 3.

Obtención de híbridos triploides de cítricos por cruzamiento entre un parental femenino diploide y un parental masculino tetraploide.

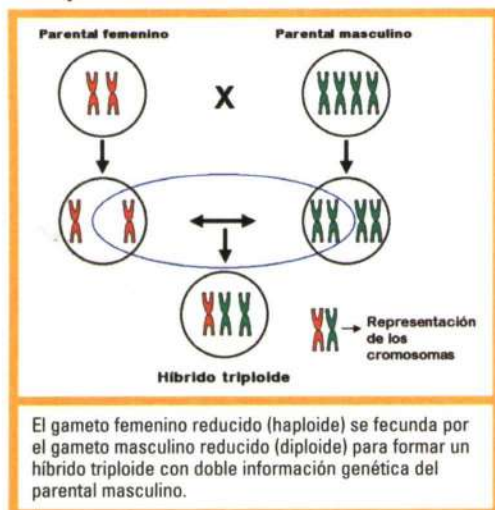


Figura 4.

Obtención de híbridos triploides de cítricos por cruzamiento entre dos parentales diploides.

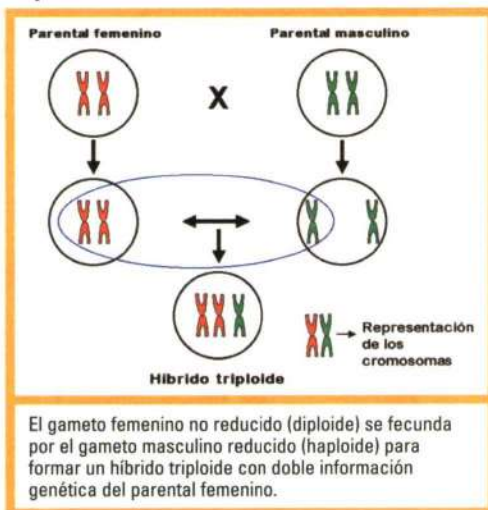
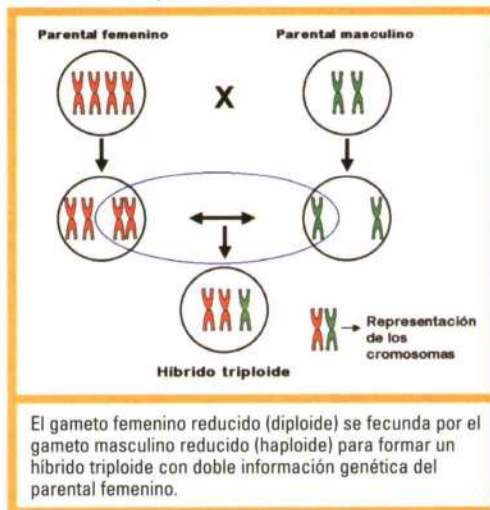


Figura 5.

Obtención de híbridos triploides de cítricos por cruzamiento entre un parental femenino tetraploide y un parental masculino diploide.



millas y de elevada calidad. Hay que resaltar que una parte de este programa se realiza con la financiación de AVASA.

Cruzamientos efectuados en el programa

Parentales femeninos diploides y parentales masculinos tetraploides

Como parentales femeninos se han usado diversas variedades de clementino y mandarino Fortune (figura 3). Esta aproximación está limitada por el escaso número de parentales masculinos tetraploides de calidad disponibles. De hecho cuando se inició el programa sólo disponíamos del tangelo Orlando tetraploide.

En variedades poliembriónicas de cítricos es conocido que ocasionalmente se producen autotetraploides espontáneos por duplicación de células de la nucela. En consecuencia, es posible obtener o identificar tetraploides a través del análisis mediante citometría de flujo de números elevados de plantas procedentes de semilla. El procedimiento lo hemos utilizado para obtener tetraploides de un elevado número de variedades. Probablemente la colección de genotipos tetraploides disponibles en el IVIA es la más amplia existente en la actualidad, lo que garantiza la disponibilidad de parentales de calidad para futuros cruzamientos. El único problema es que las plantas ob-

tenidas tienen caracteres juveniles y deben transcurrir varios años antes de que inicien la floración y puedan usarse en programas de hibridación. Además del tangelo Orlando, se han usado los mandarinos Nova y Común y el naranjo Pineapple tetraploides para obtener más de 3.200 híbridos triploides mediante este tipo de cruzamientos. Está previsto realizar nuevos cruzamientos entre clementinos y los parentales tetraploides obtenidos cuando estos inicien la floración.

Parentales femeninos y masculinos diploides

En cítricos se ha descrito hace tiempo que ocasionalmente se producen embriones triploides espontáneos después de la hibridación de dos parentales diploides (figura 4). Hasta hace poco tiempo esta observación no tenía implicaciones prácticas, ya que las semillas con embriones triploides generalmente abortan y no dan lugar a plantas. Sin embargo, como se ha indicado anteriormente, en la actualidad es posible obtener plantas mediante el cultivo in vitro de embriones aislados de las semillas abortadas por lo que el fenómeno tiene implicaciones claras en mejora. La formación de los triploides espontáneos se produce con baja frecuencia y depende del genotipo. Como parentales femeninos se han usado el mandarino Fortune, que es el más eficiente, y diversas variedades de clementino. Esta aproximación tiene la ventaja de que el número de parentales masculinos que pueden utilizarse se amplía enormemente, lo que permite la elección de los mismos sobre la base de sus características agronómicas. En el programa del IVIA se han usado 30 parentales masculinos diferentes para obtener más de 4.000 híbridos triploides mediante este tipo de hibridaciones.

Parentales femeninos tetraploides y parentales masculinos diploides

La limitación de estos cruzamientos (figura 5) es que no existían mandarinos monoembriónicos tetraploides que pudieran usarse como parentales femeninos. Recientemente hemos conseguido obtener por primera vez plantas tetraploides de Clemenules, Marisol, Fina y Moncada mediante tratamiento de ápices caulinares con colchicina y regeneración de plantas mediante microinjerto in vitro. Las primeras polinizaciones efectuadas han dado resultados muy prometedores y han permitido obtener más de 1.800 híbridos usando veinte parentales diferentes. La ventaja de este tipo de cruzamientos es que el número de parentales masculinos que puede usarse es muy

Las características de calidad de estas nuevas variedades, IVIA Tri-1, IVIA Tri-2 y AVASA Pri-43, permiten aventurar que cubrirán sin duda un importante hueco en la producción de mandarinas tardías y permitirán realizar la necesaria reconversión de una parte de la superficie de clementinas

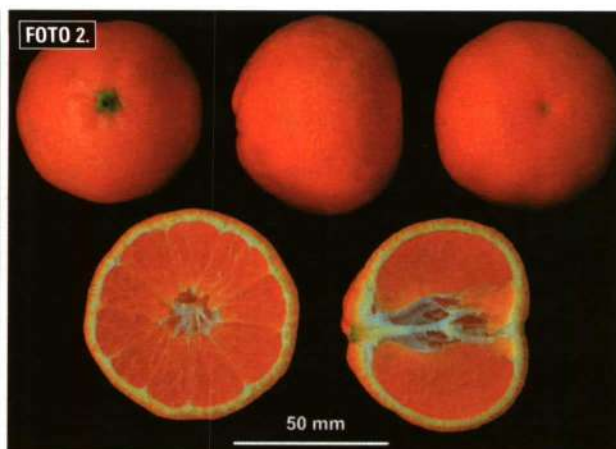
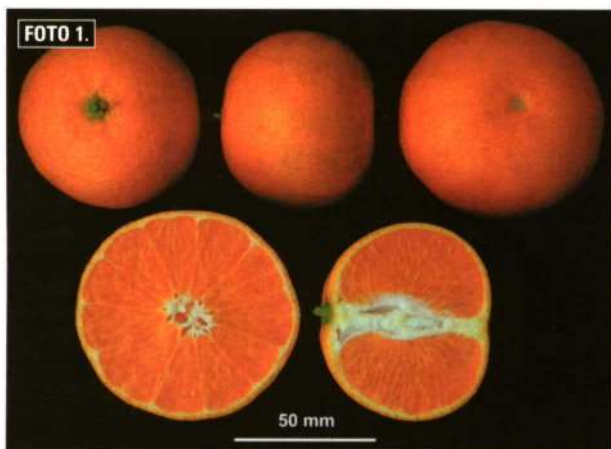


Foto 1. Hibrido triploide IVIA Tri-1. Foto 2. Hibrido triploide IVIA Tri-2.

elevado, que los híbridos tienen la mayor dotación genética procedente de los clementinos y que es más eficiente que los otros procedimientos. De hecho el programa se está enfocando en la actualidad casi exclusivamente a estos cruzamientos.

Los tres tipos de cruzamientos representan aproximaciones complementarias. Los procedimientos usados son aparentemente lentos y poco eficientes, ya que sólo se obtienen entre 0,3 y 1 plantas triploides por cada flor polinizada. Sólo la aplicación de un gran esfuerzo por parte del grupo de trabajo ha permitido obtener desde el inicio del programa más de 9.000 híbridos triploides de más de 147 combinaciones de parentales diferentes.

Evaluación y selección

Los híbridos obtenidos están actualmente en fase de evaluación en campo. Una de las características de los híbridos de cítricos, tanto triploides como diploides, es que tienen caracteres juveniles, lo que implica que tardan varios años en florecer y fructificar y además tienen espinas grandes. Estos caracteres juveniles tardan normalmente varios años en desaparecer. Nuestros resultados en este aspecto son mucho más rápidos de lo esperado, ya que a los cuatro años del injerto en campo el 88% de los triploides han iniciado la floración, cuando de acuerdo con datos de la bibliografía esperábamos que esta situación se alcanzase a los siete u ocho años. Hasta ahora hemos realizado la evaluación inicial de las características de la fruta de los algo más de 1.800 híbridos que han fructificado (alrededor del 20% del total), de los que se han preseleccionado más de 50 híbridos prometedores para una evaluación más exhaustiva.

Ninguno de los híbridos preseleccionados produce semillas de forma significativa, la mayoría son de maduración tardía y algunos de ellos tienen una fruta de calidad excelente. Antes de proceder a la entrega a los agricultores de algún híbrido es necesario confirmar en nuevas plantaciones los datos previos obtenidos y averiguar el comportamiento agronómico de los mismos en aspectos tan importantes como la productividad, posible vecería en variedades tardías y presencia de espinas, que es un factor muy importante desde el punto de vista agronómico. Además, en los híbridos que tienen Fortune como parental hay que comprobar su tolerancia o sensibilidad a *Alternaria*.

A pesar de la necesidad de completar alguno de estos datos, se ha tomado la decisión de iniciar el proceso de propagación comercial de tres híbridos previamente presentados al Registro de Protección de Variedades. La decisión se ha adoptado conjuntamente entre la Conselleria de Agricultura y el sector en base a las excelentes perspectivas de estos híbridos y a la necesidad urgente del sector de dis-

poner de nuevas variedades de mandarinos tardíos. Su selección se ha realizado porque producen fruta de calidad de forma consistente, porque han disminuido de forma muy importante la espinosidad en las últimas brotaciones y porque hasta el momento no han presentado síntomas de *Alternaria*, a pesar de que este patógeno está presente en la

parcela de evaluación. El nombre de las variedades está actualmente en fase de registro, por lo que las seguimos denominando en este artículo por la clave de la referencia del obtentor. Sus características más importantes se detallan a continuación.

IVIA Tri-1®

Obtenido por polinización controlada realizada en abril de 1996 entre mandarino Fortune diploide como parental femenino y el tangor Murcott diploide como parental masculino. El híbrido se plantó en campo en septiembre de 1998 y se realizaron sobreinjertos en abril de 2004 para ampliar el número de árboles para la evaluación.

La primera floración se produjo en la primavera de 2002 y se ha realizado la evaluación de la fruta desde el año 2004 hasta la actualidad.

El árbol es vigoroso, con hojas grandes, hábito de crecimiento erecto y de forma elipsoidal. Tiene buena compatibilidad con el patrón citrange Carrizo.

La longitud y número de espinas ha ido disminuyendo paulatinamente. En las últimas brotaciones de los árboles sobreinjertados el 74% de los nudos tienen espinas, con una media de 7,5 mm de longitud.

Los datos disponibles indican una buena productividad y aparentemente sin vecería. El fruto es de forma achatada, de piel lisa y muy brillante (foto 1). Tiene un calibre de 65–75 mm, con espesor de corteza de 2,5 mm y un índice de color de 15. Alcanza la madurez en la segunda o tercera semana de marzo. La acidez es de 19,2 g/l y tiene un elevado contenido en azúcares, alcanzando los 18° Brix con un índice de madurez de 9,5 y un 48% de contenido en zumo.

El fruto es atractivo, con una facilidad de pelado aceptable, aroma de los aceites esenciales agradable, textura de pulpa fundente, residuo del gajo escaso y valoración organoléptica general buena.

Se ha observado la formación ocasional de semillas con baja frecuencia de 0 a 0,1 semillas por fruto, es decir, una media de una semilla cada diez frutos.

IVIA Tri-2®

Obtenido por polinización controlada realizada en 1996 entre mandarino Fortune diploide como parental femenino y mandarino Kara diploide como parental masculino. El híbrido se plantó en campo en abril de 1998 y se realizaron sobreinjertos en abril de 2004 para ampliar el número de árboles para la evaluación.

La primera floración se produjo en la primavera de 2001 y se ha realizado la evaluación de la fruta desde el año 2002 hasta la actualidad.

Árbol con hábito de crecimiento descendente, forma achatada y con hojas grandes. En las últimas brotaciones de los árboles el 25% de los nudos tenían espinas, con una media de 5 mm de longitud.

Actualmente la obtención de nuevas variedades de mandarinos se está orientando hacia los híbridos triploides en la mayoría de los países que realizan programas de mejora. El programa que se realiza en España es el más amplio y todos los años se realizan nuevas polinizaciones. Es previsible que a partir de este momento se liberarán nuevas variedades de forma continua. ■

Se ha observado la formación ocasional de semillas con baja frecuencia de 0 a 0,05 semillas por fruto, es decir, una media de una semilla cada veinte frutos.

AVASA Pri-43®

Se ha observado la formación ocasional de semillas con baja frecuencia de 0 a 0,4 semillas por fruto, es decir, una media de cuatro semillas cada diez frutos.

Conclusiones

Las características de calidad de estas nuevas variedades permiten aventurar que cubrirán sin duda un importante hueco en la producción de mandarinas tardías y permitirán realizar la necesaria reconversión de una parte de la superficie de clementinas. La necesidad urgente de variedades tardías de mandarina ha provocado la decisión conjunta por parte de la Conselleria y el sector de acelerar el proceso de propagación comercial de estas tres variedades triploides. Es evidente que los datos existentes sobre las mismas no son exhaustivos, pero la caracterización del comportamiento agronómico en distintos ecosistemas requiere varios años para

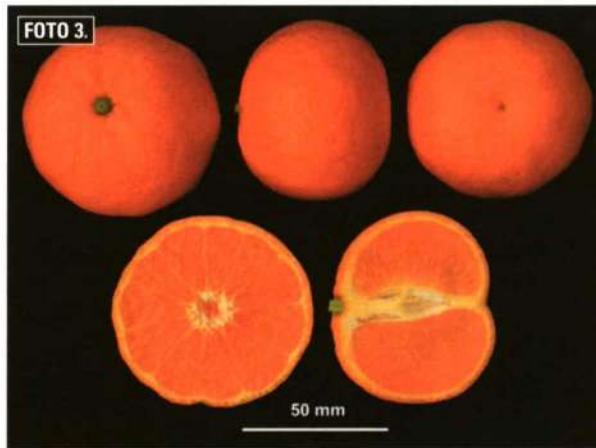
















Foto 3. Híbrido triploide AVASA Pri-43.

M A Y O R	 COMPANY ABONOS® www.abonostry.es		 VIGOR®-Mo Quelato líquido de Molibdeno al 4%.	M A Y O R	
		 ELEMENTS® Bioactivador líquido con NPK y Aminoácidos de síntesis.			
	 BOR-MOL® Abono líquido de Boro y quelato de Molibdeno (B.L.).		 FERRO® Quelato líquido de Hierro al 6%.		
		 GLUCO® Madurante y Bioactivador líquido con NK y Aminoácidos de síntesis.			 MICRO'S® Quelato líquido de Magnesio, Manganeso y Zinc (C.S.S.O.).
	 FROL® Solución de abono NPK (24S), 5-6-15 (S), con micro-nutrientes.		 COMPLEX® liq Mezcla líquida de microelementos (Fe, Mn, Zn y Cu), Nitrogeno, Aminoácidos y Péptidos.		
R E N T A B I L I D A D		 micro's® DUE Quelato líquido de Manganeso y Zinc (S.O.).		E S T I M U L O	
	<div>  ABONOS INNOVACIÓN · EFICACIA · SOSTENIBILIDAD TRY COMPANY ABONOS, S.L. C/ Costa Brava, 18 - 28034 Madrid info@abonostry.es </div>				
P A R A				P A R A	
S U S C R I B I B O				S U S C R I B I B O	
C U L T I V O				C U L T I V O	
P L A N T A S				P L A N T A S	